

# Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP04/019800

International filing date: 24 December 2004 (24.12.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP  
Number: 2003-428300  
Filing date: 24 December 2003 (24.12.2003)

Date of receipt at the International Bureau: 17 February 2005 (17.02.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland  
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

24.12.2004

日本国特許庁  
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日 2003年12月24日  
Date of Application:

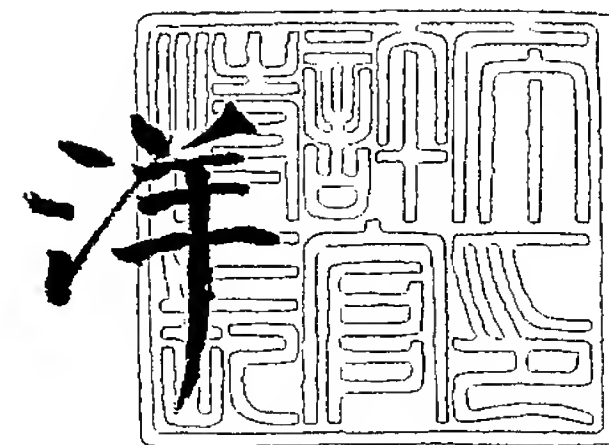
出願番号 特願2003-428300  
Application Number:  
[ST. 10/C]: [JP2003-428300]

出願人 株式会社ロコモジェン  
Applicant(s):

2005年 2月 3日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

小川



【書類名】 特許願  
【整理番号】 P03-0156  
【提出日】 平成15年12月24日  
【あて先】 特許庁長官 殿  
【国際特許分類】 A61K 48/00  
【発明者】  
    【住所又は居所】 神奈川県横浜市都筑区中川 1 - 2 - 5 港北ガーデンヒルズ A棟  
                            5 0 3 号  
    【氏名】 中島 利博  
【発明者】  
    【住所又は居所】 神奈川県横浜市青葉区新石川 2 - 1 6 - 7 石川坂マンション 3  
                            0 5 号  
    【氏名】 山崎 聡士  
【発明者】  
    【住所又は居所】 神奈川県横浜市港南区日野中央 2 - 3 9 - 9 コスモ港南台 5 0  
                            7 号  
    【氏名】 八木下 尚子  
【特許出願人】  
    【識別番号】 503302207  
    【氏名又は名称】 株式会社ロコモジェン  
【代理人】  
    【識別番号】 100092783  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 小林 浩  
    【電話番号】 03-3273-2611  
【選任した代理人】  
    【識別番号】 100095360  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 片山 英二  
【選任した代理人】  
    【識別番号】 100093676  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 小林 純子  
【選任した代理人】  
    【識別番号】 100120134  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 大森 規雄  
【手数料の表示】  
    【予納台帳番号】 157061  
    【納付金額】 21,000円  
【提出物件の目録】  
    【物件名】 特許請求の範囲 1  
    【物件名】 明細書 1  
    【物件名】 図面 1  
    【物件名】 要約書 1  
    【包括委任状番号】 0314062

【書類名】 特許請求の範囲

【請求項 1】

p53癌抑制遺伝子の活性を促進する物質を含む医薬組成物。

【請求項 2】

p53癌抑制遺伝子の活性を促進する物質が、シノビオリンの発現阻害物質である請求項 1 記載の医薬組成物。

【請求項 3】

シノビオリンの発現阻害物質が、シノビオリンをコードする遺伝子に対する siRNA 又は shRNA である請求項 2 記載の医薬組成物。

【請求項 4】

シノビオリンをコードする遺伝子が、配列番号 1 に示される塩基配列を含むものである請求項 3 記載の医薬組成物。

【請求項 5】

siRNA が、配列番号 1 に示す塩基配列のうち一部の配列を標的とするものである請求項 3 記載の医薬組成物。

【請求項 6】

癌を治療するための請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

シノビオリンの発現を阻害することを特徴とする p53 癌抑制遺伝子の活性化方法。

【請求項 8】

シノビオリンの発現を阻害することを特徴とする p53 癌抑制遺伝子の核への局在化方法

。

【請求項 9】

シノビオリンの発現を阻害して p53 癌抑制遺伝子を核に局在化させることを特徴とする癌の抑制方法。

【請求項 10】

核に局在化した p53 癌抑制遺伝子に、さらに放射線照射を行うことを特徴とする請求項 9 記載の方法。

【書類名】 明細書

【発明の名称】 癌の抑制方法

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、p53癌抑制遺伝子を活性化させて核に局在化させる方法に関する。また、本発明は、p53癌抑制遺伝子の活性を促進する物質を含む医薬組成物に関する。

【背景技術】

【0 0 0 2】

シノビオリンは、リウマチ患者由来滑膜細胞で過剰発現している膜タンパク質として発見された新規タンパク質である (W002/052007)。そして、遺伝子改変動物を用いた研究により、シノビオリンは関節リウマチの発症に必須の分子であることが判明した。

【0 0 0 3】

タンパク質構造予測システムにより、シノビオリンはRING fingerモチーフを有することが示唆されている。このモチーフはタンパク質のユビキチン化に重要な役割を果たすE3ユビキチンライゲースという酵素に多く見出されているが、実際、シノビオリンがE3ユビキチンライゲースの特徴のひとつである自己ユビキチン化活性を有することが証明されている (W002/052007)。

【0 0 0 4】

ところで、p53は、第17染色体p13に位置しており、癌細胞の発生及び増殖においてきわめて重要な癌抑制遺伝子である。p53は、DNA上の特異的塩基配列[5'-(A/T)GPyPyPy-3']を認識し、waf1/cipl、GADD45、BAX等の特定の遺伝子の転写活性化を促す。また、(i)その他の多くの遺伝子の転写を抑制すること、(ii)SV40ラージT抗原、アデノウイルスE1Bタンパク質、パピローマウイルスE6などのウイルス性癌遺伝子、あるいはmdm2等の細胞性癌遺伝子と結合すること、(iii)ミスマッチを含むDNAと特異的に結合すること等の生理機能が知られている。

【0 0 0 5】

従って、癌の抑制物質を見出すには、p53の機能を解析することが重要である。

【非特許文献 1】 Vogelstein B, Lane D, Levine AJ. Surfing the p53 network. Nature. 2000 Nov 16;408(6810):307-10.

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0 0 0 6】

本発明は、p53癌抑制遺伝子の活性化を促進する方法、及びp53癌抑制遺伝子の活性化を促進する医薬組成物を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0 0 0 7】

本発明者は、上記課題を解決するために鋭意研究を行った。そして、シノビオリンホモノックアウト動物を詳細に解析したところ、野生型に比し、アポトーシスを起こしている細胞が多数観察され、また、アポトーシスの誘導に深く関与しているp53が核内に局在し、強く発現していることが判明した。そして、シノビオリンの機能を抑制することにより、p53が活性化され、癌細胞の増殖が阻止されることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0 0 0 8】

すなわち、本発明は以下の通りである。

(1) p53癌抑制遺伝子の活性を促進する物質を含む医薬組成物。

【0 0 0 9】

p53癌抑制遺伝子の活性を促進する物質としては、シノビオリンの発現阻害物質（例えばシノビオリンをコードする遺伝子に対するsiRNA又はshRNA）を例示することができる。ここで、シノビオリンをコードする遺伝子は、例えば配列番号 1 に示される塩基配列を含むものである。



## 【0010】

本発明において、siRNAとしては、配列番号1に示す塩基配列のうち一部の配列を標的とするものが挙げられる。

## 【0011】

本発明の医薬組成物は、癌を治療するために使用される。

(2) シノビオリンの発現を阻害することを特徴とするp53癌抑制遺伝子の活性化方法。

(3) シノビオリンの発現を阻害することを特徴とするp53癌抑制遺伝子の核への局在化方法。

(4) シノビオリンの発現を阻害してp53癌抑制遺伝子を核に局在化させることを特徴とする癌の抑制方法。

## 【0012】

上記抑制方法においては、核に局在化したp53癌抑制遺伝子に、さらに放射線照射を行うことができる。

## 【発明の効果】

## 【0013】

本発明により、p53癌抑制遺伝子の活性を促進する物質が提供される。この物質は、p53を活性化してp53を核に移行させることができるため、癌の治療用医薬組成物として有用である。

## 【発明を実施するための最良の形態】

## 【0014】

以下、本発明を詳細に説明する。

## 【0015】

本発明は、シノビオリンの機能を阻害してp53癌抑制遺伝子（単にp53ということもある）を核に局在化及び活性化させることにより、癌を抑制することを特徴とする。

## 1. p53の活性化

正常細胞を紫外線等にさらすと、細胞内のp53が活性化して、その結果細胞増殖が阻止されることから、p53の濃度を上昇させることにより、癌細胞の増殖を止めることができる。つまり、p53が機能しない場合は、癌細胞の増殖が止められず、癌が進行することになる。事実、p53は正常な個体の細胞にはほとんど見られないが、癌患者由来の細胞の約半数においてはこのp53の欠損変異が起こっている。また、このような変異が起こっていない場合でも、p53の制御機構に何らかの変異が生じて癌抑制機能が失われている。したがって、癌の進行を抑えるにはp53を有効に機能させることが必要である。

## 【0016】

本発明においては、p53の活性化を癌治療の有効な方法の一つとするため、シノビオリンの機能に着目した。そして、シノビオリンホモノックアウト動物を作製し、詳細に解析したところ、野生型に比してアポトーシスを起こしている細胞が多数観察された。すなわち、シノビオリンの機能を阻害すると、アポトーシスに深く関与しているp53の活性化が促進され、シノビオリンの機能阻害が癌抑制につながることを見出した。

## 【0017】

なお、アポトーシスとは、細胞が自ら引き起こすプログラムされた細胞死を意味し、細胞核の染色体凝集、細胞核の断片化、細胞表面微絨毛の消失、細胞質の凝集、カスパーゼの活性化、ミトコンドリア膜電位の消失等の特徴とする。細胞に上記特徴が生じたときに、アポトーシスが引き起こされたと判断する。

## 【0018】

本発明において、胎児胚におけるp53の免疫染色を行うと、シノビオリンホモノックアウトマウス胎児胚では全身においてp53が強く発現する。また、シノビオリンホモノックアウトマウス胎児胚から単離した胎仔線維芽細胞（MEFs）も、野生型から単離したものに比して強く発現しており、しかもp53は核内に強く局在する。この核局在は野生型ではまったく観察されない。このことは、シノビオリンの発現を阻害することにより、p53を核

内へ移行させることができることを意味する。さらに、シノビオリンホモノックアウトマウス胎仔MEFsでは、高い放射線感受性を示す。従って、本発明において、シノビオリンの発現を阻害してp53を核に移行させた後に放射線照射を行うと、癌細胞の増殖を効果的に抑制することができる。

#### 【0019】

さらに、本発明においては、p53 (p53タンパク質) のアミノ酸の一部をリン酸化することによりp53を活性化させることを特徴とする。p53のリン酸化の対象は、p53のアミノ酸配列のうちセリン残基であることが好ましく、第15番目のセリン残基がさらに好ましい。

#### 【0020】

p53はATRおよびATM等のキナーゼによりリン酸化されることが知られており、リン酸化は、シノビオリンを阻害することによりこれらのキナーゼ活性を上昇させることが考えられる。

#### 【0021】

### 2. シノビオリン発現阻害及び活性阻害

p53を活性化するためには、シノビオリンの発現を阻害する方法が採用される。

#### 【0022】

シノビオリンの発現阻害には、特に限定されるものではないが、例えばRNA干渉 (RNAi) を利用することができる。シノビオリン遺伝子に対するsiRNA (small interfering RNA) を設計及び合成し、これを細胞内に導入させることによって、RNAiを引き起こすことができる。

#### 【0023】

RNAiとは、dsRNA (double-strand RNA) が標的遺伝子に特異的かつ選択的に結合し、当該標的遺伝子を切断することによりその発現を効率よく阻害する現象である。例えば、dsRNAを細胞内に導入すると、そのRNAと相同配列の遺伝子の発現が抑制 (ノックダウン) される。

#### 【0024】

siRNAの設計は、以下の通り行なうことができる。

#### 【0025】

(a) シノビオリンをコードする遺伝子であれば特に限定されるものではなく、任意の領域を全て候補にすることが可能である。例えば、ヒトの場合では、GenBank Accession number AB024690 (配列番号1) の任意の領域を候補にすることができる。

#### 【0026】

(b) 選択した領域から、AAで始まる配列を選択し、その配列の長さは19~25塩基、好ましくは19~21塩基である。その配列のGC含量は、例えば40~60%となるものを選択するとよい。具体的には、配列番号1に示される塩基配列のうち、以下の塩基配列から選ばれる少なくとも1つの配列を含むDNAをsiRNAの標的配列として使用することができる。特に、

(i) (配列番号2)、(ii) (配列番号3)、(vi) (配列番号7)、(vii) (配列番号8)、(viii) (配列番号9) を標的とすることが好ましい。

(i) AA TGTCTGCATCATCTGCCGA GA (配列番号2)

(ii) AA GCTGTGACAGATGCCATCA TG (配列番号3)

(iii) AA AGCTGTGACAGATGCCATC AT (配列番号4)

(iv) AA GAAAGCTGTGACAGATGCC AT (配列番号5)

(v) AA GGTCTGCTGTACATGGCC TT (配列番号6)

(vi) AA CAAGGCTGTGTACATGCTC TA (配列番号7)

(vii) AA ATGTTTCCACTGGCTGGCT GA (配列番号8)

(viii) AA GGTGTTCTTTGGGCAACTG AG (配列番号9)

(ix) AA CATCCACACACTGCTGGAC GC (配列番号10)

(x) AA CACCCTGTATCCAGATGCC AC (配列番号11)

(xi) AA GGTGCACACCTTCCCACTC TT (配列番号12)

(xii) AA TGTTTCCACTGGCTGGCTG AG (配列番号13)

(xiii) AA GAGACTGCCCTGCAACCAC AT (配列番号 14)

(xiv) AA CGTTCCTGGTACGCCGTCA CA (配列番号 15)

siRNAを細胞に導入するには、in vitroで合成したsiRNAをプラスミドDNAに連結してこれを細胞に導入する方法、2本のRNAをアニールする方法などを採用することができる。

#### 【0027】

また、本発明は、RNAi効果をもたらすためにshRNAを使用することもできる。shRNAとは、ショートヘアピンRNA(short hairpin RNA)と呼ばれ、一本鎖の一部の領域が他の領域と相補鎖を形成するためにステムループ構造を有するRNA分子である。

#### 【0028】

shRNAは、その一部がステムループを構造を形成するように設計することができる。例えば、ある領域の配列を配列Aとし、配列Aに対する相補鎖を配列Bとすると、配列A、スぺーサー、配列Bの順になるようにこれらの配列が一本のRNA鎖に存在するようにし、全体で45～60塩基の長さとなるように設計する。配列Aは、標的となるシノビオリン遺伝子(配列番号1)の一部の領域の配列であり、標的領域は特に限定されるものではなく、任意の領域を候補にすることが可能である。そして配列Aの長さは19～25塩基、好ましくは19～21塩基である。

#### 【0029】

### 3. 医薬組成物

本発明において作製されたshRNA、siRNAは、シノビオリンの発現を抑制する物質であり、p53を活性化させる医薬組成物(特に癌の遺伝子治療剤)として使用することができる。

#### 【0030】

本発明の医薬組成物を癌の遺伝子治療剤として使用する場合は、適用部位は特に限定されず、脳腫瘍、舌癌、咽頭癌、肺癌、乳癌、食道癌、胃癌、膵臓癌、胆道癌、胆嚢癌、十二指腸癌、大腸癌、肝癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌、腎癌、膀胱癌、横紋筋肉腫、線維肉腫、骨肉腫、軟骨肉腫、皮膚癌、各種白血病(例えば急性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病、成人型T細胞白血病、悪性リンパ腫)、等を対象として適用される。

#### 【0031】

上記癌は、原発巣であっても、転移したものであっても、他の疾患と併発したものであってもよい。

#### 【0032】

本発明の医薬組成物を遺伝子治療剤として使用する場合は、本発明の医薬組成物を注射により直接投与方法のほか、核酸が組込まれたベクターを投与方法が挙げられる。上記ベクターとしては、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、ヘルペスウイルスベクター、ワクシニアウイルスベクター、レトロウイルスベクター、レンチウイルスベクター等が挙げられ、これらのウイルスベクターを用いることにより効率よく投与することができる。

#### 【0033】

また、本発明の医薬組成物をリポソームなどのリン脂質小胞体に導入し、その小胞体を用いて投与することも可能である。siRNAやshRNAを保持させた小胞体を用いてリポフェクション法により所定の細胞に導入する。そして、得られる細胞を例えば静脈内、動脈内等の全身投与する。脳等に局所投与することもできる。

#### 【0034】

本発明の医薬組成物の投与量は、年齢、性別、症状、投与経路、投与回数、剤型によって異なるが、例えばアデノウイルスの場合の投与量は1日1回あたり $10^6 \sim 10^{13}$ 個程度であり、1週～8週間隔で投与される。

#### 【0035】

siRNA又はshRNAを目的の組織又は器官に導入するために、市販の遺伝子導入キット(例えばアデノエクスプレス:クロンテック社)を用いることもできる。



## 【0036】

以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明する。但し、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

## 【実施例1】

## 【0037】

シノビオリンホモノックアウトマウス (syno-/-) 胎児線維芽細胞 (MEFs) におけるアポトーシス関連タンパク質をウェスタンブロッティングにより検出し、さらに細胞を免疫組織染色により確認した。

## 【0038】

すなわち、免疫染色法は、MEFsを常法に従いスライドガラス上に固定し、2種類の抗p53抗体 (マウスモノクローナル抗体BD: Becton, Dickinson 社、ウサギポリクローナル抗体FL393: Santa cruz社) を用いて免疫染色を行った。3% 牛血清アルブミン (BSA) で30分ブロッッキングを行った標本に、0.3%BSAで希釈した抗p53抗体 (BD: 10  $\mu$ g/ml、FL393: 5  $\mu$ g/ml) を室温で60分免疫反応させた。反応後の標本をPBSで洗浄後、fluorescein isothiocyanate標識抗ウサギIgG抗体またはTRITC標識抗マウスIgG抗体 (Dako社) を2次抗体として免疫反応させた。抗p53抗体に免疫反応する抗原の確認は、蛍光顕微鏡で行った。

## 【0039】

その結果、野生型に比し、syno-/-のMEF培養細胞ではp53の活性化を起こしている細胞が多数確認された (図1)。

## 【実施例2】

## 【0040】

syno-/-マウスにおけるp53活性化の検討

syno-/-マウスにおけるp53活性化の検討を、embryoを用い免疫染色により行った。

## 【0041】

すなわち、syno-/-の胎仔における免疫染色は、常法に従い組織をスライドガラス上に固定し、ベクタステインABCキット (VECTOR社) を用いて行った。ブロッッキング試薬で30分ブロッッキングした標本に対して、5  $\mu$ g/mlに希釈した抗p53抗体FL393を室温で60分間免疫反応させた。反応後の標本をPBSで洗浄し、HRP標識抗ウサギIgG抗体を2次抗体として免疫反応させた。抗p53抗体に免疫反応する抗原は、HRP活性に基づく3,3'-ジアミノベンジン四塩酸塩の発色により確認した。対比染色としてメチルグリーン染色を行った。

## 【0042】

この結果、syno-/-のembryoにおけるp53が活性化していることが確認された (図2)。

## 【実施例3】

## 【0043】

p53に対するシノビオリンの効果

syno-/-のMEF培養細胞におけるアポトーシス関連タンパク質をウェスタンブロッティングにより検出した。

## 【0044】

すなわち、各種細胞を細胞破碎液 (15 mM Tris-HCl (pH7.5)、200 mM NaCl、0.5% NP40、1 mM PMSF、0.1% sodium dodecyl sulfate (SDS)、2  $\mu$ g/ml Leupeptin、2  $\mu$ g/ml Aprotinin、2  $\mu$ g/ml Pepstatin) を用いて細胞破碎画分を調製した。その後、SDS polyacrylamide電気泳動 (SDS-PAGE) により細胞破碎画分を分離した。SDS-PAGE後、細胞由来タンパク質は、エレクトロブロッティング法によりニトロセルロース (NC) 膜に転写した。このNC膜に対し、5%スキムミルクを加えた Tris buffered saline (TBS) で室温、1時間ブロッッキングした後、抗p53抗体c-terminal aa;195-393またはFL393を5%スキムミルクを加えたTBSで希釈して室温、1時間免疫反応させた。反応後のNC膜を0.1% Tween20/TBSで洗浄し、horse radish peroxidase (HRP) 標識抗ウサギIgG抗体を2次抗体として室温、1時間免疫反応させ、0.1% Tween20/TBSで洗浄し、HRP活性を検出することにより目的抗原を検出した。HRP活性の検出にはECLキット (Amersham社) を用いた (Clinical Chemistry. 25, p1531, 1979)。

## 【 0 0 4 5 】

その結果、ウェスタンブロッティングにより syno-/- の MEF 培養細胞における p53 発現量が増加していることが確認された（図 3）。

## 【実施例 4】

## 【 0 0 4 6 】

syno-/- の MEF 培養細胞における p53 のリン酸化部位の同定

抗 p53 抗体を用いたウェスタンブロッティングにより p53 のリン酸化部位の同定を行った。

。

## 【 0 0 4 7 】

すなわち、p53（配列番号 1 6）の異なるセリン残基のリン酸化を認識する 4 種の抗リン酸化 p53 モノクローナル抗体（P53ser15-P、P53ser20-P、P53ser37-P および P53ser46-P；Becton, Dickinson 社）を用いて、MEF 細胞の蛋白質を SDS-PAGE で分離し、ウェスタンブロッティング法を行った。ウェスタンブロッティング法の操作は、一次抗体として抗リン酸化 p53 モノクローナル抗体を、そして標識抗体として抗マウス IgG ヒツジ-HRP を用いる他は実施例 3 に記載のとおりである。

## 【 0 0 4 8 】

その結果、syno-/- の MEF 培養細胞において、p53 のアミノ酸配列（配列番号 1 6）中、第 15 番目のセリン残基のリン酸化が顕著であった（図 4）。図 4 において、左上のパネルが第 15 番目のセリン残基がリン酸化されたものである。53kDa 付近のバンドが顕著に濃く表れている。

## 【産業上の利用可能性】

## 【 0 0 4 9 】

本発明によりシノビオリンの機能を抑制することにより、癌の治療が可能となる。

## 【図面の簡単な説明】

## 【 0 0 5 0 】

【図 1】 シノビオリンホモノックアウトマウス胎児線維芽細胞 (MEFs) における免疫組織染色の結果を示す写真である。

【図 2】 syno-/- の embryo における抗 p53 抗体による免疫組織染色の結果を示す写真である。

【図 3】 アポトーシス関連タンパク質に関するウェスタンブロッティングの結果を示す写真である。

【図 4】 syno-/- の MEF 培養細胞における p53 のリン酸化部位を同定した結果を示す写真である。

## 【配列表】

## SEQUENCE LISTING

&lt;110&gt; Locomogene, Inc.

&lt;120&gt; A method of inhibiting a cancer

&lt;130&gt; P03-0156

&lt;160&gt; 16

&lt;170&gt; PatentIn version 3.2

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 3374

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 1

```
gccctttctt atgagcatgc ctgtgttggg ttgacagtga gggtaataat gacttggttg      60
ttgattgtag atatagggct ctcccttgca aggtaattag gctccttaaa ttacctgtaa      120
gattttcttg ccacagcatc cattctgggt aggctgggtga tcttctgagt agtgatagat      180
tggttggtgg tgaggtttac aggtgttccc ttctcttact cctgggtgttg gctacaatca      240
ggtggcgtct agagcagcat gggacaggtg ggtaagggga gtcttctcat tatgcagaag      300
tgatcaactt aaatctctgt cagatctacc tttatgtagc ccggcagtcg cgcggttga      360
gcgggctcgc ggcgctgggt tcctgggtctc cgggccaggg caatgttccg cacggcagtg      420
atgatggcgg ccagcctggc gctgaccggg gctgtgggtg ctcacgccta ctacctcaa      480
caccagttct accccactgt ggtgtacctg accaagtcca gcccagcat ggcagtcctg      540
tacatccagg cctttgtcct tgtcttcctt ctgggcaagg tgatgggcaa ggtgttcttt      600
gggcaactga gggcagcaga gatggagcac cttctggaac gticctggta cgccgtcaca      660
gagacttgtc tggccttcac cgtttttcgg gatgacttca gccccgctt tgttgactc      720
ttcactcttc ttctcttcct caaatgtttc cactggctgg ctgaggaccg tgtggacttt      780
atggaacgca gcccacat ctccctggctc tttcactgcc gcattgtctc tcttatgttc      840
ctcctgggca tcctggactt cctcttcgtc agccacgcct atcacagcat cctgaccgt      900
ggggcctctg tgcagctggt gtttggcttt gagtatgcca tcctgatgac gatgggtgctc      960
```

accatcttca tcaagtatgt gctgcactcc gtggacctcc agagtgagaa cccctgggac 1020  
aacaaggctg tgtacatgct ctacacagag ctgtttacag gcttcatcaa ggttctgctg 1080  
tacatggcct tcatgaccat catgatcaag gtgcacacct tcccactctt tgccatccgg 1140  
cccatgtacc tggccatgag acagttcaag aaagctgtga cagatgccat catgtctcgc 1200  
cgagccatcc gcaacatgaa caccctgtat ccagatgcca cccagagga gctccaggca 1260  
atggacaatg tctgcatcat ctgccgagaa gagatgggtga ctggtgccaa gagactgccc 1320  
tgcaaccaca ttttccatac cagctgcctg cgctcctggt tccagcggca gcagacctgc 1380  
cccacctgcc gtatggatgt ccttcgtgca tcgctgccag cgcagtcacc accacccccg 1440  
gagcctgcgg atcaggggcc accccctgcc cccaccccc caccactctt gcctcagccc 1500  
cccaacttcc ccagggcct cctgcctcct tttcctccag gcatgttccc actgtggccc 1560  
cccatgggcc cctttccacc tgtcccgcct cccccagct caggagaggc tgtggctcct 1620  
ccatccacca gtgcagcagc cttttctcgg ccagtgagg cagctacaac cacagctgct 1680  
ggcaccagtg ctactgctgc ttctgccaca gcatctggcc caggctctgg ctctgcccc 1740  
gaggctggcc ctgcccctgg tttccccttc cctcctccct ggatgggtat gccctgcct 1800  
ccaccctttg ccttcccccc aatgcctgtg ccccctgcgg gctttgctgg gctgaccca 1860  
gaggagctac gagctctgga gggccatgag cggcagcacc tggaggcccg gctgcagagc 1920  
ctgctgtaaca tccacacact gctggacgcc gccatgctgc agatcaacca gtacctacc 1980  
gtgctggcct ccttggggcc ccccggcct gccacttcag tcaactccac tgaggggact 2040  
gccactacag ttgttgctgc tgctcctcc accagcatcc ctagctcaga ggccacgacc 2100  
ccaaccccag gagcctcccc accagcccct gaaatggaaa ggcctccagc tcctgagtca 2160  
gtgggcacag aggagatgcc tgaggatgga gagcccgatg cagcagagct ccgccggcgc 2220  
cgctgcaga agctggagtc tcctgttgcc cactgacact gcccagccc agcccagcc 2280  
tctgctcttt tgagcagccc tcgctggaac atgtcctgcc accaagtgcc agctccctct 2340  
ctgtctgcac caggagtag tacccccagc tctgagaaag aggcgcatc ccctaggcca 2400  
agtggaaaga ggctgggggt cccatttgac tccagtccca ggcagccatg gggatctcgg 2460

gtcagttcca gccttcctct ccaactcttc agccctgtgt tctgctgggg ccatgaaggc 2520  
agaaggttta gcctctgaga agccctcttc ttccccacc cctttccagg agaaggggct 2580  
gccccccaa gccctacttg tatgtgcgga gtcacactgc agtgccgaac agtattagct 2640  
cccgttccca agtgtggact ccagaggggc tggaggcaag ctatgaactt gctcgctggc 2700  
ccaccctaa gactggtacc catttccttt tcttaccctg atctccccag aagcctcttg 2760  
tggtggtggc tgtgccccct atgccctgtg gcatttctgc gtcttactgg caaccacaca 2820  
actcaggga aggaatgcct gggagtgggg gtgcaggcgg gcagcactga gggaccctgc 2880  
ccgccccctc cccccaggcc ctttccccct gcagcttctc aagtgaact gacctgtctc 2940  
accagcagc cactgcccag ccgcactcca ggcaagggcc agtgcgctg ctcctgacca 3000  
ctgcaatccc agcgcccaag gaaggccact tctcaactgg cagaacttct gaagtttaga 3060  
attggaatta cttccttact agtgtctttt ggcttaaatt ttgtcttttg aagttgaatg 3120  
cttaatcccg ggaaagagga acaggagtgc cagactcctg gtctttccag tttagaaaag 3180  
gctctgtgcc aaggagggac cacaggagct gggacctgcc tgccccctgc ctttccccct 3240  
ggttttgtgt tacaagagtt gttggagaca gtttcagatg attatttaat ttgtaaatat 3300  
tgtacaaatt ttaatagctt aaattgtata tacagccaaa taaaacttg cattaacaaa 3360  
aaaaaaaaaa aaaa 3374

<210> 2  
<211> 23  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<400> 2  
aatgtctgca tcatctgccg aga

23

<210> 3  
<211> 23  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<400> 3  
aagctgtgac agatgccatc atg

23



<210> 4  
<211> 23  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<400> 4  
aaagctgtga cagatgccat cat

23

<210> 5  
<211> 23  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<400> 5  
aagaaagctg tgacagatgc cat

23

<210> 6  
<211> 23  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<400> 6  
aaggttctgc tgtacatggc ctt

23

<210> 7  
<211> 23  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<400> 7  
aacaaggctg tgtacatgct cta

23

<210> 8  
<211> 23  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<400> 8  
aaatgtttcc actggctggc tga

23

<210> 9  
<211> 23  
<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 9

aaggtgttct ttgggcaact gag

23

<210> 10

<211> 23

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 10

aacatccaca cactgctgga cgc

23

<210> 11

<211> 23

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 11

aacaccctgt atccagatgc cac

23

<210> 12

<211> 23

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 12

aaggtgcaca cttcccact ctt

23

<210> 13

<211> 23

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 13

aatgtttcca ctggctggct gag

23

<210> 14

<211> 23

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 14

aagagactgc cctgcaacca cat

23

<210> 15  
<211> 23  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<400> 15  
aacgttcctg gtacgccgtc aca

23

<210> 16  
<211> 393  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 16

Met Glu Glu Pro Gln Ser Asp Pro Ser Val Glu Pro Pro Leu Ser Gln  
1 5 10 15

Glu Thr Phe Ser Asp Leu Trp Lys Leu Leu Pro Glu Asn Asn Val Leu  
20 25 30

Ser Pro Leu Pro Ser Gln Ala Met Asp Asp Leu Met Leu Ser Pro Asp  
35 40 45

Asp Ile Glu Gln Trp Phe Thr Glu Asp Pro Gly Pro Asp Glu Ala Pro  
50 55 60

Arg Met Pro Glu Ala Ala Pro Arg Val Ala Pro Ala Pro Ala Ala Pro  
65 70 75 80

Thr Pro Ala Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ser Trp Pro Leu Ser Ser Ser  
85 90 95

Val Pro Ser Gln Lys Thr Tyr Gln Gly Ser Tyr Gly Phe Arg Leu Gly  
100 105 110

Phe Leu His Ser Gly Thr Ala Lys Ser Val Thr Cys Thr Tyr Ser Pro  
115 120 125

Ala Leu Asn Lys Met Phe Cys Gln Leu Ala Lys Thr Cys Pro Val Gln

130

135

140

Leu Trp Val Asp Ser Thr Pro Pro Pro Gly Thr Arg Val Arg Ala Met  
145 150 155 160

Ala Ile Tyr Lys Gln Ser Gln His Met Thr Glu Val Val Arg Arg Cys  
165 170 175

Pro His His Glu Arg Cys Ser Asp Ser Asp Gly Leu Ala Pro Pro Gln  
180 185 190

His Leu Ile Arg Val Glu Gly Asn Leu Arg Val Glu Tyr Leu Asp Asp  
195 200 205

Arg Asn Thr Phe Arg His Ser Val Val Val Pro Tyr Glu Pro Pro Glu  
210 215 220

Val Gly Ser Asp Cys Thr Thr Ile His Tyr Asn Tyr Met Cys Asn Ser  
225 230 235 240

Ser Cys Met Gly Gly Met Asn Arg Arg Pro Ile Leu Thr Ile Ile Thr  
245 250 255

Leu Glu Asp Ser Ser Gly Asn Leu Leu Gly Arg Asn Ser Phe Glu Val  
260 265 270

Arg Val Cys Ala Cys Pro Gly Arg Asp Arg Arg Thr Glu Glu Glu Asn  
275 280 285

Leu Arg Lys Lys Gly Glu Pro His His Glu Leu Pro Pro Gly Ser Thr  
290 295 300

Lys Arg Ala Leu Pro Asn Asn Thr Ser Ser Ser Pro Gln Pro Lys Lys  
305 310 315 320

Lys Pro Leu Asp Gly Glu Tyr Phe Thr Leu Gln Ile Arg Gly Arg Glu  
325 330 335

Arg Phe Glu Met Phe Arg Glu Leu Asn Glu Ala Leu Glu Leu Lys Asp  
 340 345 350

Ala Gln Ala Gly Lys Glu Pro Gly Gly Ser Arg Ala His Ser Ser His  
 355 360 365

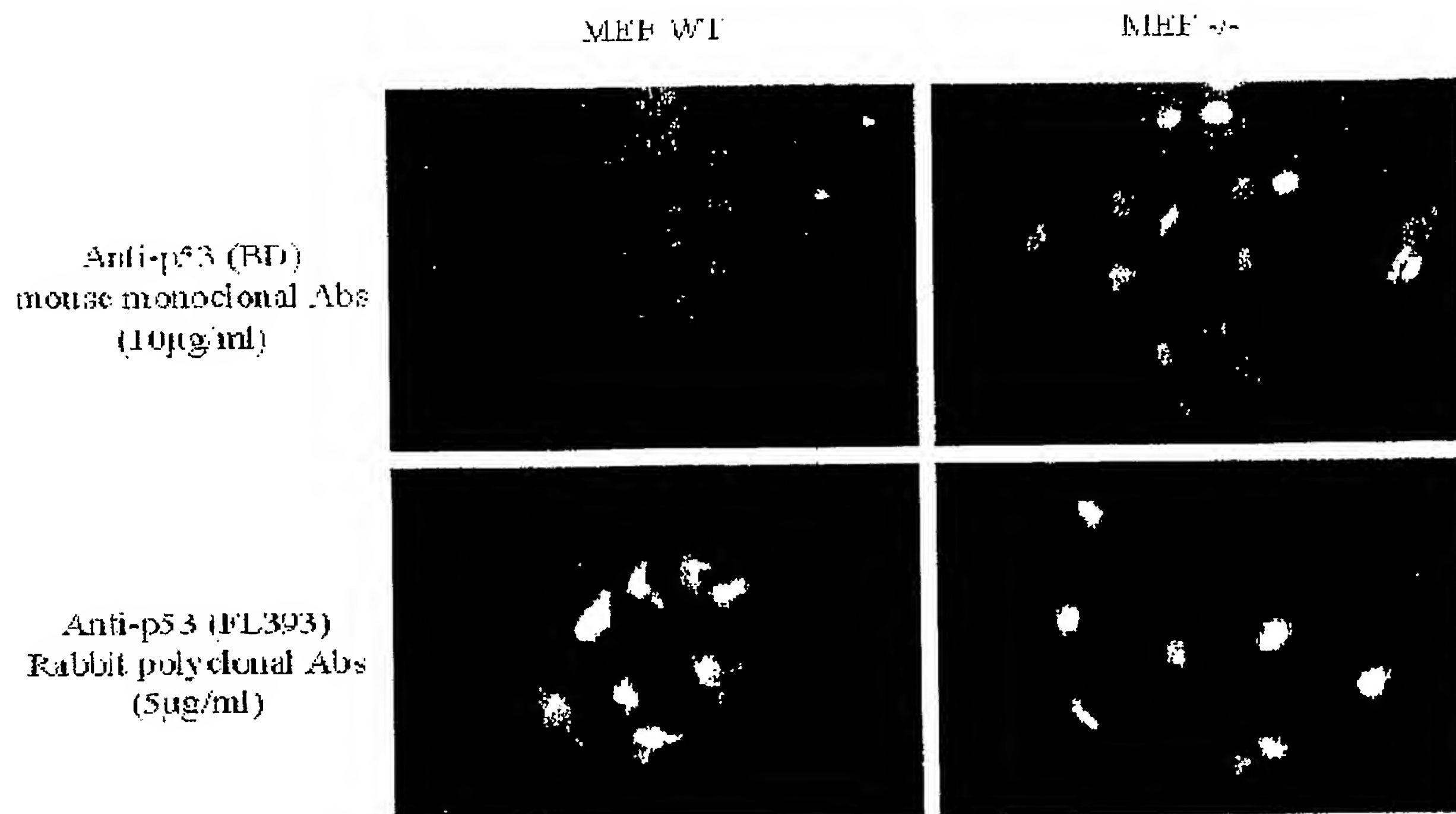
Leu Lys Ser Lys Lys Gly Gln Ser Thr Ser Arg His Lys Lys Leu Met  
 370 375 380

Phe Lys Thr Glu Gly Pro Asp Ser Asp  
 385 390

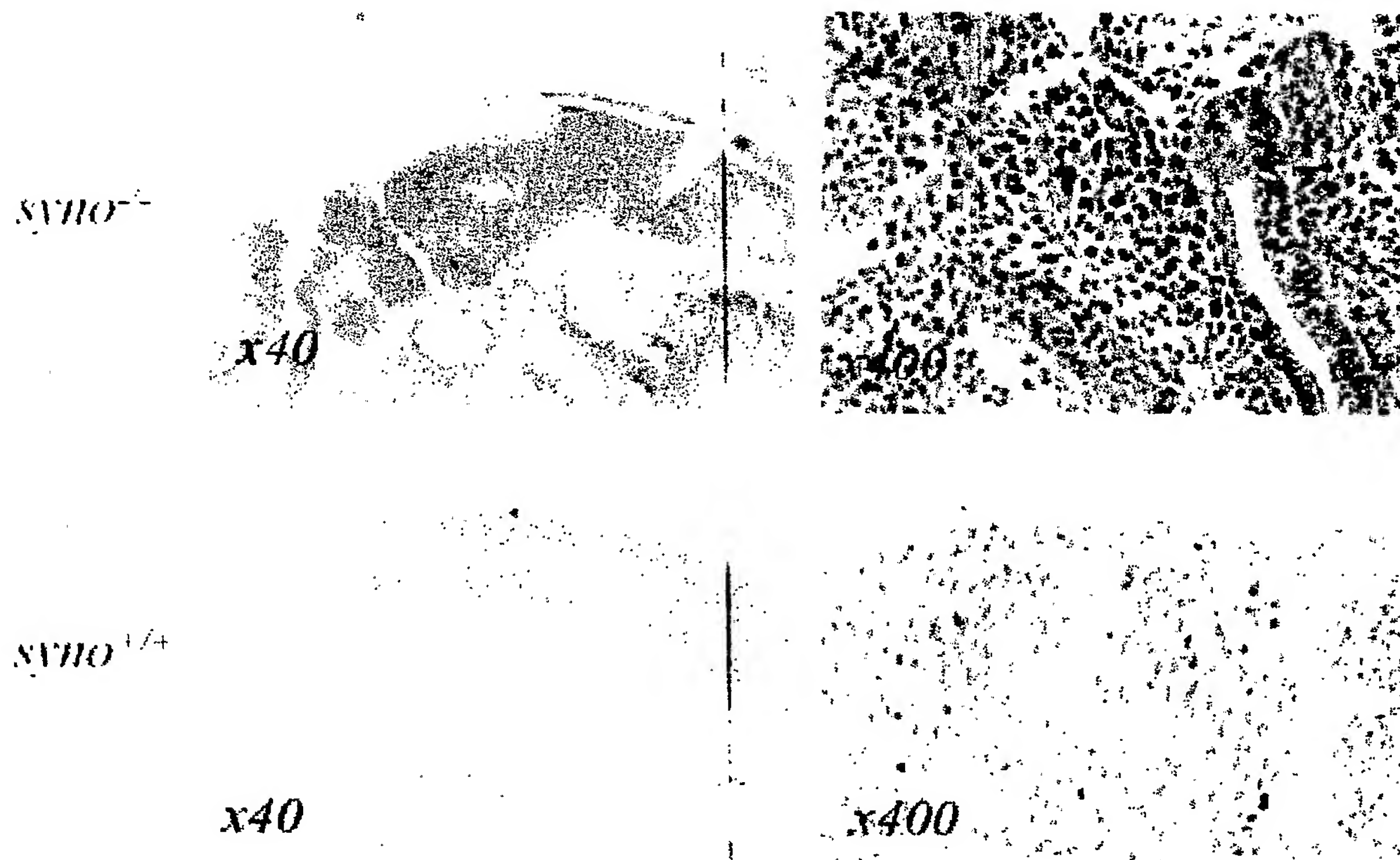


【書類名】 図面

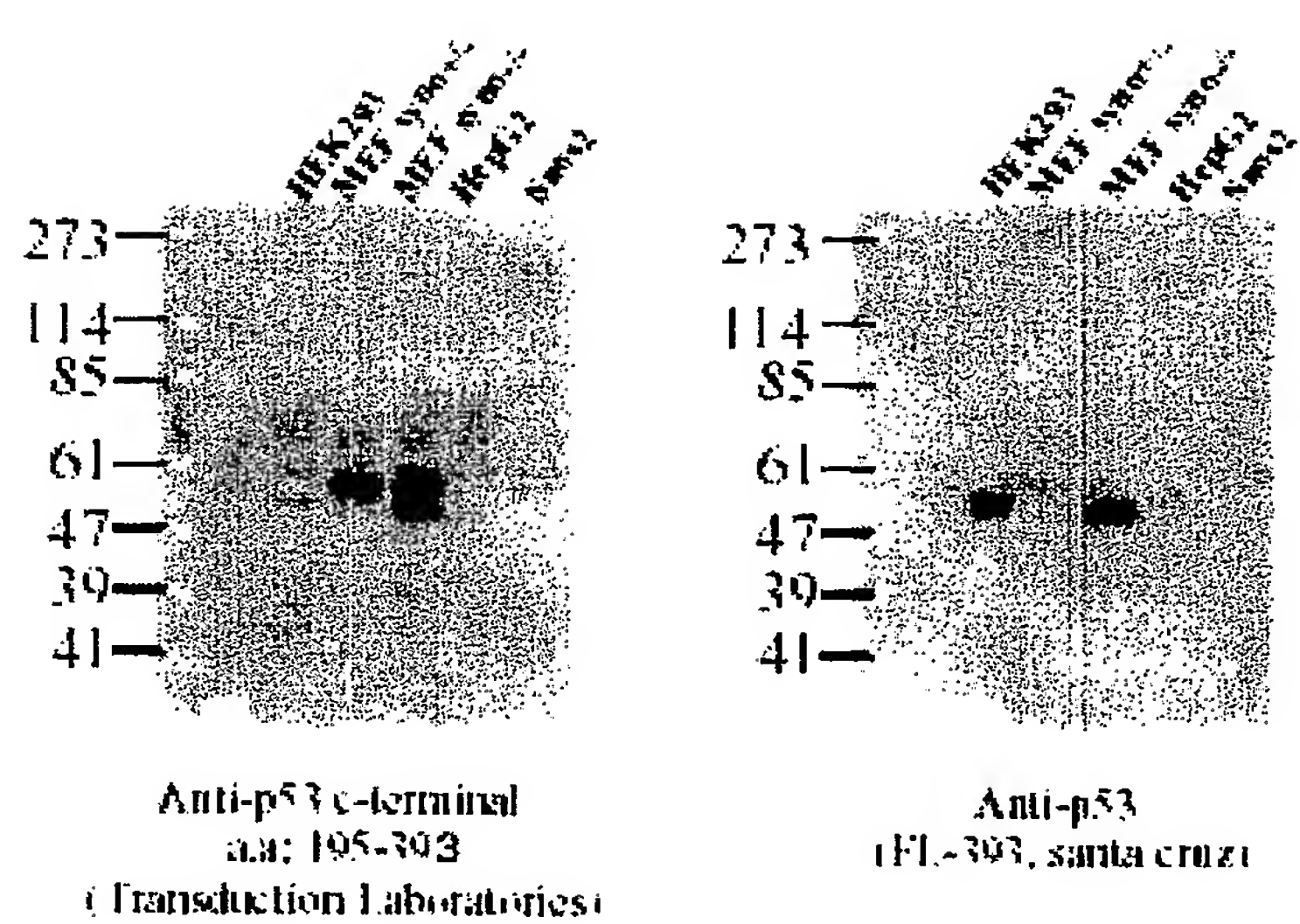
【図 1】



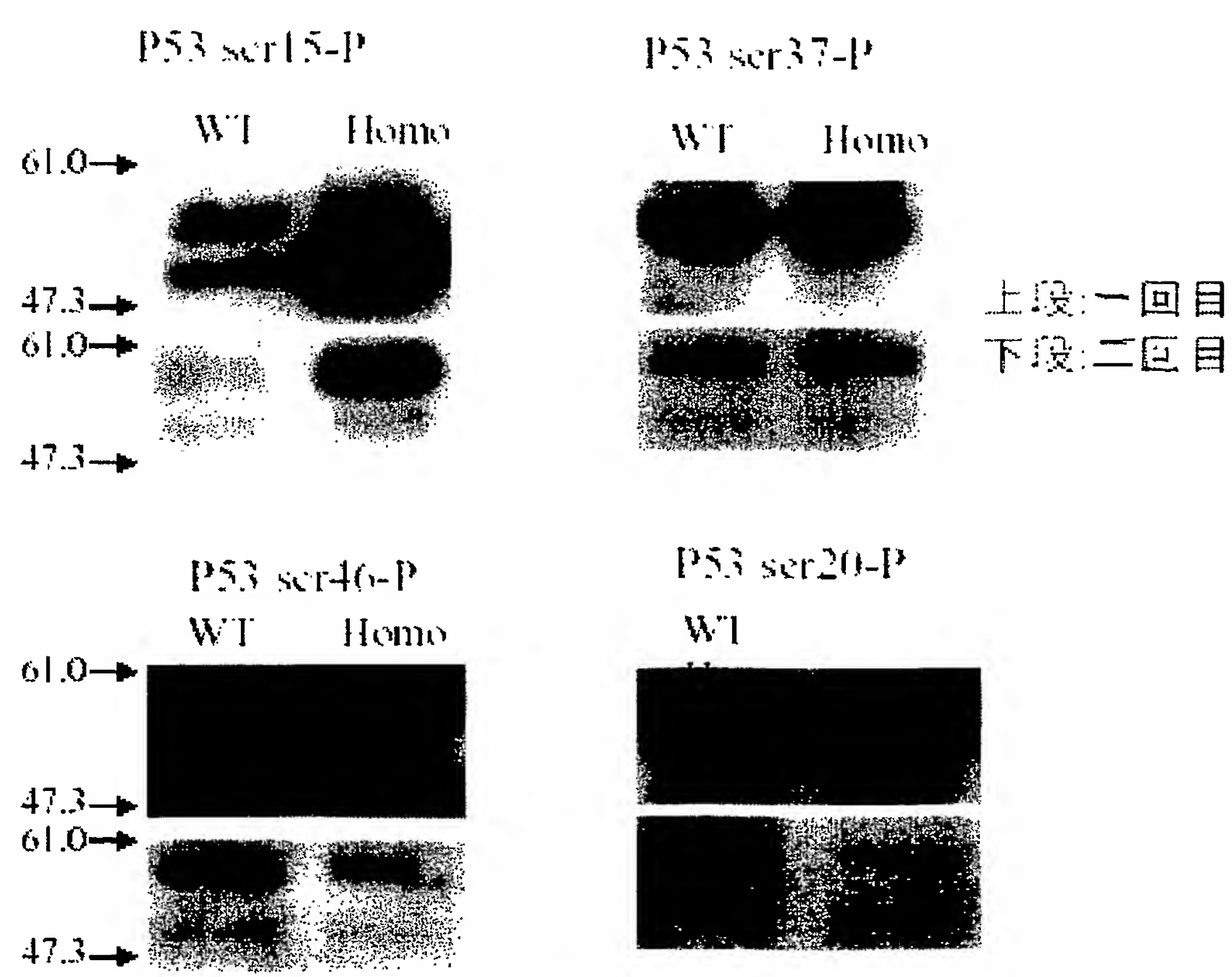
【図 2】



【図 3】



【図 4】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 p53癌抑制遺伝子を活性化させて核に局在化させる方法、及びp53癌抑制遺伝子の活性を促進する物質を含む医薬組成物の提供。

【解決手段】 p53癌抑制遺伝子の活性を促進する物質を含む医薬組成物、及びシノビオリンの発現を阻害することを特徴とするp53癌抑制遺伝子の核への局在化方法。

【選択図】 なし

特願 2 0 0 3 - 4 2 8 3 0 0

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [ 5 0 3 3 0 2 2 0 7 ]

1. 変更新月日 2 0 0 4 年 8 月 6 日  
[変更理由] 識別番号の二重登録による抹消  
[統合先識別番号] 3 0 1 0 5 0 9 0 2  
住 所 東京都港区虎ノ門 4 - 1 - 1 虎ノ門パストラル本館 7 階  
氏 名 株式会社ロコモジェン

特願 2 0 0 3 - 4 2 8 3 0 0

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [ 3 0 1 0 5 0 9 0 2 ]

1. 変更年月日 2 0 0 4 年 8 月 6 日  
[変更理由] 住所変更  
住 所 東京都港区虎ノ門 4 丁目 1 番地 1 号 虎ノ門パストラル本館  
7 階  
氏 名 株式会社ロコモジェン
2. 変更年月日 2 0 0 4 年 8 月 6 日  
[変更理由] 識別番号の二重登録による統合  
[統合元識別番号] 5 0 3 3 0 2 2 0 7  
住 所 東京都港区虎ノ門 4 丁目 1 番地 1 号 虎ノ門パストラル本館  
7 階  
氏 名 株式会社ロコモジェン